

AKTIVITAS ANTIBAKTERI REBUSAN SECANG (*Caesalpinia sappan* L.) TERHADAP *Salmonella thypii* SECARA *IN VIVO*

Antibacterial Activity of Boiled Secang Extract (*Caesalpinia Sappan* L.) Againts *Salmonella typhii* in Vivo

Shirly Kumala, Devana, Didik Tulus

Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta 12640
Email: fskumala@yahoo.com

ABSTRAK

Salah satu tanaman yang secara empiris banyak digunakan untuk pengobatan adalah *Caesalpinia sappan* L. (Secang). Batang dari tanaman secang mengandung tanin dan brasilin, yang berkhasiat sebagai antibakteri. Uji antibakteri rebusan secang dilakukan secara *in vivo* menggunakan 2 metode yaitu metode A dan metode B. Setiap metode terdiri dari 6 kelompok dan setiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit (*mus musculus*) putih jantan galur DDY. Masing-masing kelompok terdiri dari kontrol normal (K1), kontrol positif kloramfenikol (K2), kontrol negatif (K3) dan kelompok yang diberi rebusan secang konsentrasi 15 % (K4), 30 % (K5) dan 75 % (K6). Suspensi bakteri *Salmonella thypii* diinfeksi ke mencit secara intraperitonium. Pada metode A, pengobatan diberikan 2 jam setelah mencit diinfeksi bakteri, sedangkan pada metode B, pengobatan diberikan 24 jam setelah mencit diinfeksi bakteri. Setelah tiga hari pengobatan, mencit dianestesi dan cairan intraperitonium mencit diambil untuk dilakukan uji kuantitatif dan uji kualitatif. Hasil uji kuantitatif metode A menunjukkan terjadi penurunan jumlah koloni bakteri dalam cairan intraperitonium mencit pada kelompok 4 (K4), 5 (K5) dan 6 (K6) terhadap kontrol negatif (K3) sebesar 16,54 %; 25,29 % dan 25,12 %; sedangkan pada metode B sebesar 3,37 %; 9,83 % dan 20,48 %. Hasil uji kualitatif pada metode A dan metode B menunjukkan bakteri yang terisolasi dari cairan intraperitonium mencit adalah *Salmonella thypii*. Hasil penelitian menunjukkan rebusan secang dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella thypii* secara *in vivo*.

Kata kunci: Antibakteri, rebusan secang, *Salmonella thypii*, *in vivo*

ABSTRACT

One of the plant that has been used empirically for treatment was *Caesalpinia sappan* L "secang". The bark of this plant contains metabolites with strong and effective antibacterial activity, namely tannin and brasilin. Two methods, namely A and B, were employed to perform the *in vivo* antibacterial study of this plant. In every method, there were six groups (K1-K6) which each of the group consisted of five mice. K1-K3 were the control groups consisting of control using healthy mice (K1), positive control in the presence of chloramphenicol (K2) and negative control (K3). The test groups were K4-K6, mice in these group were treated with different concentrations of "secang" water extract at 15%, 30% and 75%, respectively. The *Salmonella thypii* bacterial suspension was injected to the mice via intraperitonium adminisitation. In A method, treatment was given 2 hours after infecting the mice with the bacterial suspension, while in the B method, the treatment was given to the mice after 24 hours of bacterial infection. After 3 days of treatment, the intraperitonium fluid of the mice was taken under anaesthetic condition followed by qualitative and quantitative analysis of the biological sample obtained. Quantitative analysis via A method demonstrated that a decreased of 16.54%, 25.29 % and 25.12% in bacterial colony number was observed in the samples collected from K4, K5 and K6 respectively when compared to the respective controls. B method showed smalled decreased (3.37 %, 9.83 % and 20.48 %) in the colony number counted. The qualitative analysis demonstrated that the isolated bacterial strain was *Salmonella typhi*. In conclusion, boiled water extract of secang could act as effective antibacterial agent because it inhibit the growth of *Salmonella thypii* under in vivo study conditions.

Keywords: Antibacterial, extract, secang, *Salmonella thypii*, *in vivo*

PENDAHULUAN

Tanaman Secang (*Caesalpinia sappan* L.) dari suku Caesalpiniaceae, secara empiris telah digunakan masyarakat Indonesia untuk mengobati luka (obat luar), batuk darah pada TBC dan obat diare (Soedibyo, 1998; Dalimartha, 2009). Kandungan kimia yang terdapat dalam secang antara lain senyawa tanin, asam galat, resin, resorsin, brasilin, brasilein, α phellandrene, oscimene dan minyak atsiri (Liew, 2009). Secang banyak tumbuh liar, di daerah pegunungan yang berbatu tetapi tidak terlalu dingin dan kadang-kadang ditanam sebagai tanaman pagar atau pembatas kebun (Dalimartha, 2009).

Penggunaan obat-obat tradisional hingga saat ini terutama masih berdasarkan pada dugaan-dugaan dan hasil pengalaman atau pengetahuan yang diteruskan secara turun-temurun dan belum didasarkan pada hasil penelitian dan percobaan-percobaan (Donatus dkk, 1983), oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan data ilmiah.

Pada penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui daya antibakteri rebusan secang terhadap *Salmonella thypii* secara *in vivo* pada mencit. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang daya antibakteri rebusan secang terhadap *Salmonella thypii*, dan dapat dijadikan sebagai dasar untuk pengembangan obat tradisional dimasa depan.

METODE PENELITIAN

Bahan

Secang dari BALITRO Bogor, bakteri *Salmonella thypi* koleksi dari Departemen Mikrobiologi Universitas Indonesia, kaldu pepton, Hewan coba yang digunakan adalah mencit (*mus musculus*) putih jantan galur DDY umur 2-2,5 bulan dengan berat badan 20-25 gram sebanyak 60 ekor yang diperoleh di Bagian Non Rumansia dan Satwa Harapan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor.

Antibiotika kloramfenikol, cairan fisiologi NaCl 0,9% steril, standar McFarland no.3, *Nutrient Agar*, alkohol 70%, pereaksi-pereaksi untuk pewarnaan Gram, media *enrichment* (*Lactose Broth*, *Selenite Cystine Broth* dan *Tetrathionate Brilliant Green Broth*), media selektif (*Brilliant Green Agar* dan *Bismuth Sulfite Agar*), media penegasan dan pereaksi untuk uji biokimia (*Triple Sugar Iron Agar*, *Lysine Iron Agar*, *Indole*, *Methyl Red-Voges Proskauer* dan *Cimmons Citrate*) dan media diferensial (*Mac Conkey Agar*, *Eosin Methylene Blue Agar* dan *Salmonella-Shigella Agar*).

Metode

Dibuat rebusan steril dengan konsentrasi 15%, 30% dan 75%, (serbuk dari secang ditimbang 15, 30 dan 75 gram, masing-masing dilarutkan dalam aquades 100 mL). Dosis suspensi kloramfenikol yang digunakan adalah 50 mg/kg BB/hari, diberikan secara oral dengan volume 0,5 mL/mencit satu kali sehari selama 3 hari berturut-turut. Pada **metode A**, suspensi kloramfenikol diberikan 2 jam setelah mencit diinfeksi bakteri, sedangkan pada **metode B**, suspensi kloramfenikol diberikan 24 jam setelah mencit diinfeksi bakteri.

Pemberian rebusan secang. Untuk masing-masing metode, volume rebusan secang yang diberikan adalah 0,5 mL/mencit. Dan diberikan secara oral satu kali sehari selama 3 hari berturut-turut. Pada metode A, rebusan secang diberikan 2 jam setelah mencit diinfeksi bakteri, sedangkan pada metode B, rebusan secang diberikan 24 jam setelah mencit diinfeksi bakteri.

Perlakuan hewan coba untuk masing-masing metode. Mencit diadaptasi, agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan dalam kandang hewan selama 1-3 hari, kemudian dikelompokkan menjadi 6 kelompok. Pada kelompok 2, 3, 4, 5 dan kelompok 6 diinfeksi suspensi bakteri. Suspensi bakteri yang digunakan mempunyai populasi bakteri yang setara dengan dengan kekeruhan dari standar McFarland no.3. Kemudian suspensi bakteri ini diinfeksi ke mencit dengan volume 1 mL/mencit secara intraperitonium. Pengobatan dilakukan secara oral dan volume pemberian setiap kelompok adalah 0,5 mL/mencit.

Metode A. Mencit diinfeksi dengan suspensi bakteri uji, dua jam kemudian setelah mencit diinfeksi (hari ke-0 setelah infeksi), setiap kelompok mencit diberikan pengobatan. Pada hari ke-1 dan hari ke-2 setelah infeksi, mencit diberikan pengobatan yang sama dengan hari ke-0 setelah infeksi. Pada hari ke-3, mencit dianestesi dengan eter dan cairan intraperitonium mencit diambil.

Metode B. Pada mencit yang telah diinfeksi dua puluh empat jam (hari ke-1 setelah infeksi), setiap kelompok mencit diberikan pengobatan. Hari ke-2 dan hari ke-3 setelah infeksi, mencit diberikan pengobatan yang sama dengan hari ke-1 setelah infeksi. Pada hari ke-4, mencit dianestesi dengan eter dan cairan intraperitonium mencit diambil. Untuk mengetahui apakah ada penurunan jumlah bakteri setelah perlakuan dan apakah bakteri yang dihitung adalah bakteri *Salmonella thypii* maka diadakan reisolasi cairan intraperitonium mencit dilakukan didalam *Laminar Air Flow*. Cairan intraperitonium ini digunakan untuk uji kuantitatif dan uji kualitatif.

Penimbangan bobot badan mencit dan pengamatan angka kematian mencit dilakukan setiap hari selama perlakuan hewan coba.

Penetapan Parameter untuk Masing-Masing Metode

Angka kematian mencit. Untuk menentukan angka kematian dari mencit, cairan intraperitonium mencit diambil dilakukan *Plate count* (uji kuantitatif). Penghitungan prosen penurunan koloni bakteri adalah sebagai berikut:

Prosen penurunan jumlah rata-rata koloni bakteri yang terdapat dalam cairan intraperitonium mencit pada kontrol positif (K2) terhadap kontrol negatif (K3):

$$\% = \frac{(\text{Log rata-rata K3} - \text{Log rata-rata K2})}{\text{Log rata-rata K3}} \times 100\% \dots\dots(1)$$

Prosen penurunan jumlah rata-rata koloni bakteri yang terdapat dalam cairan intraperitonium mencit pada kelompok yang diobati dengan rebusan kayu secang konsentrasi 15% (K4) terhadap kontrol negatif (K3):

$$\% = \frac{(\text{Log rata-rata K3} - \text{Log rata-rata K4})}{\text{Log rata-rata K3}} \times 100\% \dots\dots(2)$$

Prosen penurunan jumlah rata-rata koloni bakteri yang terdapat dalam cairan intraperitonium mencit pada kelompok yang diobati dengan rebusan kayu secang konsentrasi 30% (K5) terhadap kontrol negatif (K3):

$$\% = \frac{(\text{Log rata-rata K3} - \text{Log rata-rata K5})}{\text{Log rata-rata K3}} \times 100\% \dots\dots(3)$$

Prosen penurunan jumlah rata-rata koloni bakteri yang terdapat dalam cairan intraperitonium mencit pada kelompok yang diobati dengan rebusan kayu secang konsentrasi 75% (K6) terhadap kontrol negatif (K3):

$$\% = \frac{(\text{Log rata-rata K3} - \text{Log rata-rata K6})}{\text{Log rata-rata K3}} \times 100\% \dots\dots(4)$$

Pengambilan cairan intraperitonium mencit juga digunakan untuk reidentifikasi bakteri *Salmonella thypii* secara kualitatif. Untuk memastikan apakah bakteri yang diamati atau yang dihitung adalah bakteri *Salmonella typhii*, maka dilakukan pewarnaan Gram dan uji kebenaran bakteri dengan menggunakan reaksi biokimia (Cappuccino dan Sherman.2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengamatan Angka Kematian Mencit

a. Hasil pengamatan angka kematian mencit hari ke-3 setelah infeksi pada metode A dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengamatan angka kematian mencit metode A (hari ke-3 setelah infeksi)

Mencit no	K1	K2	K3	K4	K5	K6
1	Hidup	Hidup	Hidup	Mati	Hidup	Hidup
2	Hidup	Hidup	Hidup	Hidup	Mati	Hidup
3	Hidup	Hidup	Hidup	Hidup	Hidup	Hidup
4	Hidup	Hidup	Hidup	Hidup	Hidup	Hidup
5	Hidup	Hidup	Mati	Hidup	Hidup	Hidup

Keterangan:

K1 : Kelompok mencit sebagai kontrol normal

K2 : Kelompok mencit sebagai kontrol positif

K3 : Kelompok mencit sebagai kontrol negatif

K4 : Kelompok mencit yang diobati dengan rebusan secang konsentrasi 15%

K5 : Kelompok mencit yang diobati dengan rebusan secang konsentrasi 30%

K6 : Kelompok mencit yang diobati dengan rebusan secang konsentrasi 75%

Pada Tabel 1 menunjukkan pada kelompok 1 (kelompok normal), 2 (kontrol positif) dan kelompok 6 (kelompok yang diobati dengan rebusan secang konsentrasi 75%) seluruh mencit hidup (100% hidup), sedangkan pada kelompok 3 (kontrol negatif), kelompok 4 (kelompok yang diobati dengan rebusan secang konsentrasi 15%) dan kelompok 5 (kelompok yang diobati dengan rebusan secang konsentrasi 30%) sebanyak 1 ekor mencit mati dan 4 ekor lainnya masih hidup (80% hidup).

b. Hasil pengamatan angka kematian mencit metode B
Angka kematian mencit dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengamatan angka kematian mencit metode B (hari ke-4 setelah infeksi)

Mencit no.	K1	K2	K3	K4	K5	K6
1	Hidup	Mati	Mati	Mati	Hidup	Mati
2	Hidup	Hidup	Mati	Hidup	Mati	Hidup
3	Hidup	Hidup	Hidup	Mati	Hidup	Hidup
4	Hidup	Hidup	Mati	Mati	Mati	Mati
5	Hidup	Mati	Mati	Hidup	Mati	Mati

Keterangan:

K1 : Kelompok mencit sebagai kontrol normal

K2 : Kelompok mencit sebagai kontrol positif

K3 : Kelompok mencit sebagai kontrol negatif

K4 : Kelompok mencit yang diobati dengan rebusan secang konsentrasi 15%

K5 : Kelompok mencit yang diobati dengan rebusan secang konsentrasi 30%

K6 : Kelompok mencit yang diobati dengan rebusan secang konsentrasi 75%

Pada Tabel 2 menunjukkan hasil pengamatan angka kematian mencit hari ke-4 setelah infeksi pada metode B yang dapat dilihat pada Tabel 2. Pada kelompok 1 (kelompok normal) seluruh mencit masih hidup (100% hidup), pada kelompok 2 (kontrol positif) sebanyak 2 ekor mencit mati (60% hidup), pada kelompok 3 (kontrol negatif) sebanyak 4 ekor mencit mati (20% hidup), sedangkan pada kelompok yang diobati dengan rebusan secang konsentrasi 15% (kelompok 4), 30% (kelompok 5) dan 75% (kelompok 6) sebanyak 3 ekor mencit mati (40% hidup).

Hasil Uji Kuantitatif

- a. Hasil uji kuantitatif (hasil *Colony Counting* (CFU/mL) cairan intraperitonium mencit hasil reisolasi metode A)

Hasil *Colony Counting* (CFU/mL) cairan intraperitonium mencit hasil reisolasi metode A yang dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil *Colony Counting* (CFU/mL) cairan intraperitonium mencit hasil reisolasi metode A

Mencit no.	K1	K2	K3	K4	K5	K6
1	0	1,20x10 ⁴	6,56x10 ⁵		* 4,20x10 ⁴	5,90x10 ⁴
2	0	6,00x10 ³	6,24x10 ⁵	2,18x10 ⁵		* 2,20x10 ⁴
3	0	7,20x10 ⁴	9,20x10 ⁵	2,90x10 ⁴	2,50x10 ⁴	1,60x10 ⁴
4	0	1,90x10 ⁴	1,28x10 ⁶	1,45x10 ⁵	1,10x10 ⁴	1,50x10 ⁴
5	0	4,00x10 ³		* 4,60x10 ⁴	1,80x10 ⁴	2,40x10 ⁴

Hasil Log Colony Counting (CFU/mL) cairan intraperitonium mencit Metode A

Mencit no.	K1	K2	K3	K4	K5	K6
1	0	4,079	5,817		* 4,623	4,771
2	0	3,778	5,795	5,338		* 4,342
3	0	4,857	5,964	4,462	4,398	4,204
4	0	4,279	6,107	5,161	4,041	4,176
5	0	3,602		* 4,663	4,255	4,380
Rata-rata	0	4,119	5,921	4,906	4,329	4,375

Keterangan :

- * : Mencit mati selama perlakuan
K1 : Kelompok mencit sebagai kontrol normal
K2 : Kelompok mencit sebagai kontrol positif
K3 : Kelompok mencit sebagai kontrol negatif
K4 : Kelompok mencit yang diobati dengan rebusan kayu secang 15%
K5 : Kelompok mencit yang diobati dengan rebusan kayu secang 30%
K6 : Kelompok mencit yang diobati dengan rebusan kayu secang 75%

Pada Tabel 3 menunjukkan prosen penurunan jumlah rata-rata koloni bakteri yang terdapat dalam cairan intra-peritonium mencit pada kontrol positif (kelompok 2), kelompok yang diobati dengan rebusan secang 15% (kelompok 4), kelompok yang diobati dengan rebusan secang 30% (kelompok 5) dan kelompok yang diobati dengan rebusan secang 75% (kelompok 6) terhadap kontrol negatif (kelompok 3) berturut-turut adalah 30,43%, 17,14%, 26,89% dan 26,11%.

- b. Hasil uji kuantitatif (hasil *Colony Counting* (CFU/mL) cairan intraperitonium mencit hasil reisolasi metode B)

Hasil *Colony Counting* (CFU/mL) cairan intraperitonium mencit hasil reisolasi metode B dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil *Colony Counting* (CFU/mL) cairan intraperitonium mencit hasil reisolasi metode B

Mencit no.	K1	K2	K3	K4	K5	K6
1	0	*	*		* 1,60x10 ⁸	*
2	0	2,00x10 ⁵		* 6,30x10 ⁸		* 1,00x10 ⁶
3	0	8,00x10 ⁷	1,32x10 ⁹		* 1,40x10 ⁸	2,00x10 ⁷
4	0	1,00x10 ³		*	*	*
5	0		*	* 6,60x10 ⁸		*

Hasil Log Colony Counting (CFU/mL) cairan intraperitonium mencit Metode B

Mencit no.	K1	K2	K3	K4	K5	K6
1	0	*	*		* 8,204	*
2	0	5,301		* 8,799		* 6,000
3	0	7,903	9,121		* 8,146	7,301
4	0	3,000		*	*	*
5	0		*	* 8,820		*
Rata-rata	0	5,401	9,121	8,809	8,175	6,651

Keterangan:

- * : Mencit mati selama perlakuan
K1 : Kelompok mencit sebagai kontrol normal
K2 : Kelompok mencit sebagai kontrol positif
K3 : Kelompok mencit sebagai kontrol negatif
K4 : Kelompok mencit yang diobati dengan rebusan kayu secang 15%
K5 : Kelompok mencit yang diobati dengan rebusan kayu secang 30%
K6 : Kelompok mencit yang diobati dengan rebusan kayu secang 75%

Pada Tabel 4 menunjukkan prosen penurunan jumlah rata-rata koloni bakteri yang terdapat dalam cairan intraperitonium mencit pada kontrol positif (kelompok

2), kelompok yang diobati dengan rebusan secang 15% (kelompok 4), kelompok yang diobati dengan rebusan secang 30% (kelompok 5) dan kelompok yang diobati dengan rebusan secang 75% (kelompok 6) terhadap kontrol negatif (kelompok 3) berturut-turut adalah 40,79%; 3,42%; 10,37% dan 27,08%.

Hasil Uji Kualitatif

Hasil reisolasi bakteri *Salmonella typhii* dapat dilihat pada Tabel 5 dan 6. Hasil pengamatan pewarnaan Gram dengan pengamatan mikroskop menunjukkan bakteri *Salmonella typhii* dengan ciri morfologi: bentuk batang berwarna merah dengan rangkaian rantai dan tersebar, Gram negatif

Pengobatan dengan rebusan secang diberikan secara oral karena rebusan pada umumnya diminum, sehingga sebagai pembanding, pemberian aquades pada kontrol normal dan kontrol negatif serta kloramfenikol pada kontrol positif juga dilakukan secara oral. Rebusan secang diberikan satu kali sehari selama 3 hari secara oral karena secara empiris, rebusan secang baik sebagai obat tradisional tunggal maupun sebagai obat tradisional campuran, diminum satu kali sehari selama 3 hari (Soedibyo,1998).

Penentuan dosis rebusan 15%, 30% dan 75%, berdasarkan hasil uji pendahuluan yang dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode seri pengenceran kaldu pepton. Rebusan dengan konsentrasi 15% dapat menghambat pertumbuhan, sehingga dosis untuk *in vivo* digunakan 15, 30 dan 75%.

Angka Kematian Mencit

Dari hasil penelitian, dapat diketahui bahwa prosentase hidup mencit pada kelompok 1 (kontrol normal) pada metode A dan metode B adalah sama yaitu 100% hidup. Hal ini terjadi karena pada kelompok 1 mencit tidak diinfeksi bakteri *Salmonella thypii* sehingga tidak terjadi kematian pada mencit selama perlakuan hewan coba, baik pada metode A maupun pada metode B.

Prosentase hidup mencit pada metode A lebih besar dibandingkan dengan metode B, prosentase hidup mencit pada metode A untuk kelompok 2, 4, 5 dan 6 berturut-turut sebesar 100%, 80%, 80% dan 100% sedangkan pada metode B sebesar 60%, 40%, 40% dan 40%. Hal ini terjadi karena pada metode A, pengobatan diberikan 2 jam setelah mencit diinfeksi bakteri di mana bakteri *Salmonella thypii* yang ada di dalam cairan intraperitonium mencit berada dalam keadaan sangat sensitif terhadap obat yang diberikan sehingga bakteri

Tabel 5. Pengamatan hasil uji kualitatif (reidentifikasi bakteri yang terdapat dalam cairan intraperitonium mencit hasil reisolasi) metode A

K	Gram	Media Selektif		Uji biokimia										IMVIC				Media diferensial		
				TSIA				LIA												
		L		T		G	H ₂ S							L	T	G	H ₂ S	I	MR	VP
		A	B	A	B															
1	Tidak ada koloni	Tidak ada koloni yang tumbuh pada media		-	+	+	-	-	-	Ungu	Ungu	-	-	-	-	-	-	Tidak ada koloni yang tumbuh pada media	Tidak ada pengamatan	Tidak ada koloni yang tumbuh pada media
2	Negatif	Koloni transparan dengan kilau logam pada media	Koloni hitam dengan kilau logam pada media warna kekuningan	-	+	+	-	+	+	Ungu	Ungu	-	+	-	+	-	+	Koloni coklat pada media transparan pada media warna coklat	Koloni coklat pada media warna coklat	Koloni hitam dan transparan pada media warna kecoklatan
3	Negatif			-	+	+	-	+	+	Ungu	Ungu	-	+	-	+	-	+			
4	Negatif			-	+	+	-	+	+	Ungu	Ungu	-	+	-	+	-	+			
5	Negatif			-	+	+	-	+	+	Ungu	Ungu	-	+	-	+	-	+			
6	Negatif			-	+	+	-	+	+	Ungu	Ungu	-	+	-	+	-	+			

Keterangan:

K : Kelompok mencit
K1 : Kelompok mencit sebagai kontrol normal
K2 : Kelompok mencit sebagai kontrol positif
K3 : Kelompok mencit sebagai kontrol negatif
K4 : Kelompok mencit yang diobati dengan rebusan kayu secang 15%
K5 : Kelompok mencit yang diobati dengan rebusan kayu secang 30%
K6 : Kelompok mencit yang diobati dengan rebusan kayu secang 75%
BGA : Brilliant Green Agar
BSA : Bismuth Sulfite Agar
TSIA : Triple Sugar Iron Agar
LIA : Lysine Iron Agar
L : Lereng

T : Tusukan
G : Gas
A : Asam (positif bila media berwarna kuning)
B : Basa (positif bila media berwarna merah)
I : Indole (positif bila terbentuk lapisan merah diatas permukaan)
MR : Methyl Red (positif bila terbentuk warna merah)
VP : Voges Proskauer (positif bila terbentuk warna merah tua)
CC : C Simmons Citrate (positif bila media berwarna biru)
MCA : Mac Conkey Agar
EMBA : Eosin Methylene Blue Agar
SSA : Salmonella-Shigella Agar
+ : Reaksi positif
- : Reaksi negatif

yang dihambat pertumbuhannya akan lebih banyak jika dibandingkan dengan kelompok mencit yang diobati 24 jam setelah diinfeksi. Pada metode B, bakteri yang terdapat dalam cairan intraperitonium mencit telah berkembang biak sehingga jumlah bakteri akan lebih banyak dan menyebabkan tingkat kematian mencit pada metode B lebih besar daripada metode A.

Pada metode A, prosentase hidup mencit kelompok 2 sama dengan prosentase hidup mencit kelompok 6, sedangkan prosentase hidup mencit kelompok 4 sama dengan prosentase hidup mencit kelompok 5. Hal ini menunjukkan bahwa jika pengobatan diberikan 2 jam setelah mencit diinfeksi bakteri, rebusan secang konsentrasi 75% mempunyai kemampuan mencegah terjadinya kematian mencit sama seperti kloramfenikol, sedangkan rebusan secang konsentrasi 15% mempunyai kemampuan mencegah terjadinya kematian sama seperti rebusan secang konsentrasi 30%.

Pada metode B, prosentase hidup mencit kelompok 4 sama dengan prosentase hidup mencit kelompok 5 dan kelompok 6, sedangkan prosentase hidup mencit kelompok 2 lebih besar daripada prosentase hidup mencit pada kelompok 4, 5 dan 6. Hal ini menunjukkan bahwa jika pengobatan dilakukan 24 jam setelah mencit diinfeksi bakteri, rebusan secang konsentrasi 15% mempunyai kemampuan mencegah

terjadinya kematian mencit sama seperti rebusan secang konsentrasi 30% dan 75% tetapi kloramfenikol mempunyai kemampuan mencegah terjadinya kematian mencit yang lebih besar dari rebusan secang.

Prosentase hidup mencit pada kelompok 3 (kontrol negatif) pada metode A dan metode B lebih kecil jika dibandingkan dengan kelompok lainnya. Hal ini terjadi karena pada kelompok 3, mencit tidak diberikan pengobatan setelah diinfeksi bakteri, sehingga jumlah bakteri yang terdapat dalam cairan intraperitonium mencit pada kelompok 3 lebih banyak dari kelompok lainnya dan menyebabkan tingkat kematian mencit pada kelompok 3 lebih besar. Pada metode A, prosentase hidup mencit lebih besar daripada metode B, prosentase hidup mencit pada metode A 80% sedangkan pada metode B hanya 20%, hal ini mungkin karena waktu perlakuan hewan coba pada metode B lebih lama daripada metode A, waktu perlakuan hewan coba mulai dari pemberian infeksi sampai dengan perlakuan anestesi mencit untuk metode B adalah selama 4 hari sedangkan pada metode A hanya 3 hari sehingga jumlah bakteri yang terdapat dalam cairan intraperitonium mencit pada metode B akan lebih banyak daripada metode A sehingga akan menyebabkan tingkat kematian mencit pada metode B lebih besar. Aktivitas antibakteri rebusan secang akan lebih besar

Tabel 6. Pengamatan hasil uji kualitatif (Reidentifikasi bakteri yang terdapat dalam cairan intraperitonium mencit hasil reisolasi) metode B

K	Gram	Media selektif		Uji biokimia								IMVIC				Media diferensial		
				TSIA				LIA				I	MR	VP	CC	MCA	EMBA	SSA
		BGA	BSA	L A	T B	G	H ₂ S	L	T	G	H ₂ S							
1	Tidak ada koloni	Tidak ada koloni yang tumbuh pada media		-	+	+	-	-	-	Ungu	Ungu	-	-	-	-	Tidak ada koloni yang tumbuh pada media	Tidak ada pengamatan	Tidak ada koloni yang tumbuh pada media
2	Negatif	Koloni transparan dengan media warna merah	Koloni hitam dengan kilau logam pada media warna kekuningan	-	+	+	-	+	+	Ungu	Ungu	-	+	-	+	Koloni coklat transparan pada media coklat	Koloni coklat pada media coklat	Koloni hitam dan transparan pada media warna kecoklatan
3	Negatif			-	+	+	-	+	+	Ungu	Ungu	-	+	-	+			
4	Negatif			-	+	+	-	+	+	Ungu	Ungu	-	+	-	+			
5	Negatif			-	+	+	-	+	+	Ungu	Ungu	-	+	-	+			
6	Negatif			-	+	+	-	+	+	Ungu	Ungu	-	+	-	+			

Keterangan:

K : Kelompok mencit
 K1 : Kelompok mencit sebagai kontrol normal
 K2 : Kelompok mencit sebagai kontrol positif
 K3 : Kelompok mencit sebagai kontrol negatif
 K4 : Kelompok mencit yang diobati dengan rebusan kayu secang 15%
 K5 : Kelompok mencit yang diobati dengan rebusan kayu secang 30%
 K6 : Kelompok mencit yang diobati dengan rebusan kayu secang 75%
 BGA : *Brilliant Green Agar*
 BSA : *Bismuth Sulfite Agar*
 TSIA : *Triple Sugar Iron Agar*
 LIA : *Lysine Iron Agar*
 L : Lereng

T : Tusukan
 G : Gas
 A : Asam (positif bila media berwarna kuning)
 B : Basa (positif bila media berwarna merah)
 I : *Indole* (positif bila terbentuk lapisan merah diatas permukaan)
 MR : *Methyl Red* (positif bila terbentuk warna merah)
 VP : *Voges Proskauer* (positif bila terbentuk warna merah tua)
 CC : *Cimmons Citrate* (positif bila media berwarna biru)
 MCA : *Mac Conkey Agar*
 EMBA : *Eosin Methylene Blue Agar*
 SSA : *Salmonella-Shigella Agar*
 + : Reaksi positif
 - : Reaksi negatif

jika rebusan secang diberikan sebelum terjadinya inkubasi bakteri *Salmonella thypii* dalam tubuh.

Uji Kualitatif Cairan Intraperitonium Mencit Hasil Reisolasi

Untuk mengetahui apakah bakteri yang terdapat dalam cairan intraperitonium mencit hasil reisolasi adalah bakteri *Salmonella thypii*, maka dilakukan uji kualitatif yaitu dengan reidentifikasi bakteri *Salmonella thypii*. Reidentifikasi bakteri dilakukan dengan pewarnaan Gram. Pada pewarnaan Gram cairan intraperitonium hasil reisolasi kelompok 2, 3, 4, 5 dan 6 pada metode A dan metode B, diketahui koloni yang tampak pada mikroskop adalah koloni berbentuk batang berwarna merah dengan rangkaian rantai dan tersebar. Berdasarkan data yang diperoleh, dapat diketahui bahwa koloni yang tampak pada pengamatan mikroskop adalah bakteri Gram negatif, sedangkan pada kelompok 1 tidak ada koloni tersangka yang tampak pada pemeriksaan mikroskop. Hal ini menunjukkan tidak ada kontaminasi pada perlakuan. Berdasarkan hasil penelitian ini, masih perlu dilakukan penelitian uji daya antibakteri rebusan secang (*Caesalpinia sappan* L.) terhadap bakteri lain dan dengan konsentrasi yang bervariasi.

KESIMPULAN

Pada metode A menunjukkan terjadi penurunan jumlah rata-rata koloni bakteri pada konsentrasi 15% sebesar 17,14%; pada konsentrasi 30% sebesar 26,89% dan pada konsentrasi 75% sebesar 26,11%. Pada metode B menunjukkan terjadi penurunan jumlah rata-rata koloni bakteri pada konsentrasi 15% sebesar 3,42%; pada konsentrasi 30% sebesar 10,37% dan pada konsentrasi 75% sebesar 27,08%. Pada uji kualitatif untuk uji kebenaran bakteri dan pewarnaan Gram, pada metode A dan metode B, bakteri yang terisolasi dari cairan intraperitonium mencit adalah *Salmonella thypii*. Rebusan secang dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella thypii* secara *in vivo*

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Departemen Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Indonesia yang telah memberikan bakteri uji untuk digunakan dsalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Cappuccino, J.G. dan Sherman, N. (2008). *Microbiology a Laboratory Manual*. Pearson International Edition, San Francisco,
- Dalimartha, S. (2009). *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Pustaka Bunda, Jakarta.
- Donatus, I.A., Gunawan, D., Wahyono, D. dan Mulyono, T. (1980). *Risalah Simposium Penelitian Tumbuhan Obat III*. 25-26 September Yogyakarta. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, 1983.
- Kumala, S., Agustin, E. dan Wahyudi, P. (2007). Uji aktivitas antimikroba metabolit sekunder kapang endofit tanaman Trengguli (*Cassia fistula* L). *Jurnal Bahan Alam* 6(2): 46-48.
- Lemmens, R.H.M.J. dan Soetjipto, N.W. (1992). *Plant Resourch of South East Asia 3 Dye and Tannin Producy Plant*. Prosea Foundation Bogor, Indonesia.
- Secang-caesalpinia-sappan (2009). <http://liew267.wordpress.com>. [4 Mei 2009].
- Soedibyo, M. (1998). *Alam Sumber Kesehatan: Manfaat dan Kegunaan*. Balai Pustaka, Jakarta.
- Winarti, C. dan Sembiring, B.S. (1998) Pengaruh cara dan lama ekstraksi terhadap kadar tanin ekstrak secang (*Caesalpinia sappan* L.). *Warta Tumbuhan Obat Indonesia* 4(3): 17-18.